

Aus der Urologischen Klinik der Johannes Gutenberg-Universität Mainz
(Direktor: Prof. Dr. R. Hohenfellner)

In-vitro-Untersuchungen zum Stoffwechsel des Testosterons:

Das Verhalten des Testosterons und seiner
Metabolitenbildung bei steigender Substratmenge
im Prostataadenom des Menschen

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der Medizin
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz
den Medizinischen Fachbereichen

vorgelegt von

Alfons Lanzerath

aus Bergisch-Gladbach

Mainz 1975

Aus der Urologischen Klinik der Johannes Gutenberg-Universität Mainz
(Direktor: Prof. Dr. R. Hohenfellner)

In-vitro-Untersuchungen zum Stoffwechsel des Testosterons:

Das Verhalten des Testosterons und seiner
Metabolitenbildung bei steigender Substratmenge
im Prostataadenom des Menschen

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der Medizin
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz
den Medizinischen Fachbereichen

vorgelegt von
Alfons Lanzerath
aus Bergisch-Gladbach

Mainz 1975



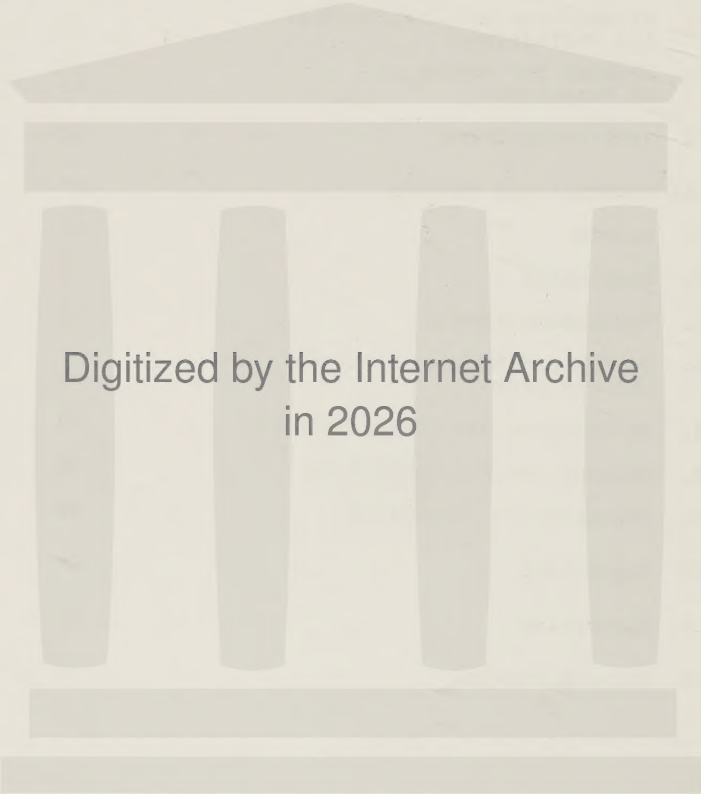
Fachbereichsdekan: Professor Dr.Langendorf

Referent: Professor Dr.Orestano

Korreferent: Professor Dr.Hohenfellner

I N H A L T

I	Einführung	Seite	1
1.	Einleitung		1
2.	Anatomie der Prostata		4
3.	Biosynthese und Eigenschaften der Androgene		6
4.	Biosynthese und Stoffwechsel des Testosterons		7
5.	Bindung der Androgene an Rezeptoren		10
II	Arbeitshypothese		12
III	Material und Methode		13
1.	Gewebe		13
2.	Reagenzien		13
3.	Versuchsanordnung		15
4.	Zertrümmerung und Extraktion der Steroide		16
5.	Darstellung der Steroidhormone		17
6.	Messung der Radioaktivität		18
7.	Statistische Auswertung		19
IV	Ergebnisse		20
V	Diskussion		32
VI	Zusammenfassung		36



Digitized by the Internet Archive
in 2026

I Einführung

1. Einleitung

Die pathologische Veränderung der Prostata im Sinne eines Prostataadenoms gehört zu den häufigsten urologischen Krankheitsbildern des Mannes jenseits des 50. Lebensjahres.

Etwa 75 % aller Männer dieser Altersgruppe sind hiervon betroffen.

Es handelt sich dabei um eine gutartige, fibroadenomatöse Hypertrophie der periurethralen Drüsen im hinteren Harnröhrenbereich, bei der das eigentliche Prostatagewebe von innen heraus verdrängt wird und im Endstadium dem Adenom schalenförmig aufsitzt ("Chirurgische Kapsel").

Die hintere Harnröhre wird dadurch eingeengt, was sich beim Patienten in den bekannten dysurischen Beschwerden äußert. Das nachfolgende Ansteigen der Restharnmenge kann über eine Infektion sehr oft im Endstadium der Urämie für den Patienten letal ausgehen.

Dieser Krankheitsverlauf hat natürlich erhebliche Konsequenzen für die Therapie.

Mit einer konservativen Therapie konnte bisher aber keine zufriedenstellende Heilung erreicht werden. Eine Operation bedeutet jedoch meistens wegen des hohen Alters der Patienten ein großes Risiko.

Die gerechte Forderung nach einer wirkungsvollen kausalen konservativen Therapie ist daher äußerst dringend und würde, falls eine solche erfolgreiche Therapie gefunden wird, dem Arzt die Möglichkeit geben, das Prostataadenom (im Volksmund als "Altherrenkrankheit" bekannt) zu beherrschen.

In der Ätiologie des Prostataadenoms nimmt der Testosteron-Stoffwechsel eine zentrale Stellung ein.

Die Abhängigkeit der Prostata von diesem Hormon und die Metabolisierung des Testosterons durch die Prostata sind schon sehr früh erforscht worden.

So konnte Hunter (1786) nachweisen, daß die normale Struktur und Funktion der Prostata eine intakte Hodenfunktion voraussetzt.

Nach Kastration kommt es zur Atrophie des Prostatagewebes, was wiederum durch Einlegen der ektomierten Hoden in die freie Bauchhöhle verhindert werden kann (Berthold, 1849). Ebenso kann sich das Prostataadenom ohne das im Hoden in den Leydigischen Zwischenzellen gebildete Testosteron nicht entwickeln.

Die Prostata wiegt nach der Geburt nur wenige Gramm und zeigt unter Einfluß der Östrogene der Mutter eine squamöse Metaplasie der mittleren und lateralen Lappen auf. (Halban, 1904)

Die vorhandenen körpereigenen Androgene rufen dagegen eine fokale Hyperplasie am dorsalen und lateralen Lappen hervor. (Price, 1962)

Das Organ behält dann sein Gewicht bis zur Pubertät bei, wo es dann unter dem Einfluß der Androgene des Hodens ein Gewicht von ca. 20 - 25 Gramm erreicht.

Gewicht und histologische Struktur bleiben dann bis ins 5. Lebensjahrzehnt konstant, wo es dann jedoch zu der schon oben beschriebenen Wucherung der periurethralen Drüsen kommt, aus der die pathognomonische Behinderung der Blasenentleerung folgt.

Die Theorie der hormonalen Wechselbeziehungen zwischen Testosteron und Östrogen darf für die Entstehung des Prostataadenoms auch heute noch nicht aufgegeben werden.

Die Plasma-Konzentration von Testosteron bleibt auch im Alter nahezu unverändert, weil sich mit dem Absinken der Produktionsrate von Testosteron auch die Ausscheidungsrate seiner Metaboliten erniedrigt.

Beim Hypogonadismus kommt es nicht zur Entwicklung eines Prostataadenoms, da kein Testosteron mehr gebildet werden kann.

Wie Gloyna, Siiteri und Wilson (1970) berichten, kann aber durch Applikation von 5 α - Dihydrotestosteron, einem Reduktionsprodukt des Testosterons, bei Hunden und Ratten ein Prostatawachstum induziert werden.

Alle diese Befunde lassen einen klaren Zusammenhang zwischen androgenen Hormonen und dem Wachstum der Prostata bzw. der Entstehung eines Prostataadenoms erkennen.

2. Anatomie der Prostata

Die Prostata ist die größte akzessorische Geschlechtsdrüse des Mannes.

Sie ist kastaniengroß und umfaßt die Urethra unmittelbar unterhalb des Ostium urethrae internum, hat aber physiologischerweise keine Beziehung zum Verschlußmechanismus der Blase.

Entwicklungsgeschichtlich entstammt sie dem Sinus urogenitalis durch Sprossung von entodermalen Drüsenknospen (Price, 1963).

Als tubulo-alveoläre Drüse besteht sie aus etwa 40 getrennten Drüsenstämmchen, die mit etwa 20 Ausführungsgängen in der Pars prostatica der Urethra auf dem Colliculus seminalis in die Harnröhre münden (Watzka, 1969).

Das Stroma der Drüse besteht reichlich aus glatten Muskelfasern, Blutgefäßen und freien Nervenendigungen.

Das sekretorische Epithel der ins Stroma eingebetteten Endstücke der verzweigten Drüsenanteile weist je nach Funktionszustand ein hohes, kubisches oder flaches Epithel auf.

Das alkalische Sekret der Prostata (pH 7,2) ist dünnflüssig und für die Motilität der Spermien von außerordentlicher Bedeutung.

Nach Lowsley (1912) wird die Prostata in 5 Lappen eingeteilt, die sich auch hinsichtlich ihrer Hormonsensibilität unterscheiden (Andrews, 1951).

Der Lobus ventralis oder anterior weist von allen Lappen die geringste Wachstumsneigung auf und kann bisweilen völlig atrophisch sein (Price, 1963).

Weiterhin gibt es den Lobus medialis, Lobus posterior und die beiden Lobi laterales.

Der Lobus posterior zeigt eine vorwiegende Androgensensibilität, der Lobus medialis eine stärkere Östrogensensibilität.

Die Lobi laterales reagieren sowohl auf Östrogene als auch auf Androgene.

Der Lobus anterior oder ventralis reagiert nur schwach auf beide Hormon-Gruppen.

Bei der Ratte fanden sich jedoch entgegengesetzte Verhältnisse. Hier zeigt die ventrale Prostata die größte Androgensensibilität.

3. Die Biosynthese und Eigenschaften der Androgene

Die Abhängigkeit der Prostata und der Prostatahypertrophie von androgen wirksamen Hormonen wurde schon einführend erwähnt.

Im folgenden soll nun die Biosynthese und der Charakter dieser Substanzen beschrieben werden.

Die Androgene, zur Gruppe der C_{19} -Steroide gehörig, haben neben ihren anabolen Eigenschaften den wichtigsten Einfluß auf die Strukturhaltung und Entwicklung der akzessorischen Geschlechtsdrüsen.

Nach Hall (1970) konnte eine Abhängigkeit des männlichen Fortpflanzungsverhaltens von der Steuerung durch Androgene nicht sicher nachgewiesen werden, da bisher objektive Verhaltensregeln- und Maßstäbe fehlen.

Seit langem aber gibt es schon verschiedene Testverfahren für Androgene, die eine quantitative und qualitative Unterscheidung möglich machen.

So z.B. der Kapaun-Kamm-Test (Ofner et al, 1962).

Weiterhin die Prüfung der androgenen Wirkung auf das Wachstum der Samenblase und der ventralen Rattenprostata.
(Saunders, 1963)

Die exakte chemische Struktur der meisten Androgene ist auch heute noch weitgehend unbekannt.

Die Androgene können in allen Steroid-produzierenden Organen (Testes, Nebennierenrinde, Ovarien) gebildet werden (Aakvaag et al, 1969).

Beim Manne spielen natürlich die Testes die größte Rolle in der Produktion solcher Androgene.

In den Hoden findet die Biosynthese der männlichen Sexualhormone statt.

4. Biosynthese und Stoffwechsel des Testosterons

Die Testosteron-Biosynthese findet unter dem steuernden Einfluß (feed back - Mechanismus) des Luteinisierungshormons hauptsächlich in den Leydig'schen Zwischenzellen des Hodens statt.

Die durch die Nebennierenrinde stattfindende Testosteronproduktion hat praktisch keine Bedeutung. Wotiz et al. (1954) konnten als ersten Stoffwechselprozeß in der menschlichen Prostata die Umwandlung von Testosteron in Androstendion nachweisen.

Als weitere Testosteron-Metaboliten konnten dann von Farnsworth (1963) Dihydrotestosteron, Androstandion und Androstandiol gefunden werden.

In diesem Zusammenhang ist die auffällige Akkumulation der Testosteron-Metaboliten in der Prostata interessant.

Die Prostata hat die Fähigkeit, Androgenhormone selektiv aufzunehmen und spezifisch zu metabolisieren. Bruchovsky et al. (1968 a) wiesen durch Injektion von radioaktiv markiertem Testosteron an funktionell hepatektomierten und normalen Ratten diese Speicherfähigkeit nach.

Becker et al. (1971 und 1972) konnten die Retention von markierten Androgenen nach H^3 -Testosteron-Injektion vor der Prostataktomie auch in der menschlichen Prostata nachweisen.

So scheinen diese Befunde mit noch anderen zu bestätigen, daß die Aufnahme des Testosterons in die Prostatazelle dazu dient, biologisch aktivere Formen zu bilden.

Hierzu muß vor allen Dingen das 5 alpha-Dihydro-testosteron gezählt werden, ein Reduktionsprodukt des Testosterons.

Bruchovsky und Wilson (1968 a) konnten aus der ventralen Prostata der Ratte 5 alpha-Dihydrotestosteron und Androstandiol als Hauptmetaboliten isolieren. Dabei machten beide Metaboliten mit dem Vorläufer Testosteron ca. 90 % der gesamten wiedergefundenen Radioaktivität aus.

Als weiterer wesentlicher Metabolit der in-vitro-Inkubationen entstand Androstendion, das mit Testosteron in einem reversiblen Gleichgewicht steht.

Weitere polare und unpolare Fraktionen besaßen keine besondere Bedeutung.

Im Gegensatz zum bisher gesagten hat die Prostata auch die Fähigkeit, weibliche Sexualhormone zu metabolisieren.

Von Farnsworth (1965 und 1966) konnte eine geringe, wenn auch oft nicht einwandfrei nachgewiesene Umwandlung von Testosteron in Östrogene gefunden werden.

Ebenso wurde eine Verstoffwechslung von Östrogenen festgestellt. (Acevedo et al. 1965 c; Mabin et al. 1970)

Der Androgenabbau verläuft vorzugsweise über die 17-Hydroxysteroid- (17-hydroxyl-pathway) und nicht über die 17-Ketosteroid- (17-oxo-pathway).

(Kelch et al. 1971 und Becker et al. 1971)

In Muskel und Leber wird dagegen der 17-Keto-Weg beschritten.

Neben der direkten Konversion von Testosteron zu 5 alpha-Dihydrotestosteron mittels der 5 alpha-Reduktase findet auch eine Interkonversion von 3 alpha-Adiol zu 5 alpha-Dihydrotestosteron statt.

Becker und Grabosch wiesen 1973 eine 70-prozentige Interkonversion von 3 alpha-Adiol zu 5 alpha-DHT in der ventralen Rattenprostata nach.

Diese Interkonversion muß auch für andere Metaboliten des Testosterons angenommen werden.

Die wichtigste Wirkung der Steroidhormone im Zielorgan ist der Einfluß auf die Ribonucleinsäuresynthese in den Nuclei (Wilson, 1963).

Daher ist die intrazelluläre Lokalisation des Testosterons und seiner Metaboliten besonders interessant.

Bemerkenswert ist, daß nach Inkubation von Prostatanuclei mit Testosteron als einziger Metabolit Dihydrotestosteron (DHT) identifiziert werden konnte.

(Bruchovsky et al. 1968 a b; Wilson et al. 1969; Mainwarring et al. 1971)

Weiterhin konnten Chatfield et al. 1966 in früheren Experimenten, in denen radioaktiv markiertes Testosteron an Ratten verabreicht wurde, zeigen, daß etwa 70 % der im Kern lokalisierten Aktivität am Euchromatin - dem Ort der aktiven Gentransskription - zu finden war.

Nach einer Untersuchung von Bruchovsky (1971) wurden 90 % des DHT im Nucleus gefunden und nur ein geringer Teil im Cytosol der Zelle.

Diese Befunde und die Auffindung des Dihydrotestosterons als einzigen Metaboliten in den Prostatazellkernen unterstützen die Vermutung, daß nicht das Testosteron, sondern sein 5 alpha-Reduktionsprodukt Dihydrotestosteron einen Einfluß auf die Proteinbiosynthese hat und damit für das Wachstum der Prostata verantwortlich ist.

Gloyna et al.(1969) fanden eine Korrelation zwischen Größe der Drüse und der Dihydrotestosteron-Synthese.

Weitere Versuche mit Prostataorgankulturen (Baulieu et al.1968; Robel et al.1971; Lasnitzky,1971) zeigten die schon erwähnte unterschiedliche Aktivität der 5 alpha-Metaboliten.

Durch Zugabe von Testosteron konnte weder eine Zellteilung noch eine Epithelhyperplasie bewirkt werden. Der Zusatz von Dihydrotestosteron bewirkte jedoch eine eindeutige Induktion der Zellproliferation. Das andere 5 alpha-Reduktionsprodukt des Testosterons - Androstandiol - erwies sich als ineffektiv für eine Zellproliferation.Es konnte lediglich die Epithelhöhe erhalten und die sekretorische Aktivität der Zellen steigern.

5. Bindung der Androgene an Rezeptoren

Das Testosteron und seine Metaboliten werden in der Zelle sowohl an nukleäre als auch an cytoplasmatische Proteine gebunden.

Den Beweis für das Vorhandensein solcher Rezeptormoleküle für Androgenhormone in der Prostata lieferten verschiedene Forschergruppen.(Mainwarring,1969 a b; Unjhem et al.1969 ; Fang et al.1969 a und 1971; Aakvaag et al.1972)

Das an ein Plasmaglobulin (TeBG) gebundene Testosteron muß dabei als eine Art "Transportform" oder Vorläufer für biologisch aktivere Androgene angesehen werden,das dann,enzymabhängig,zu den aktiveren Formen der 5 alpha-Reduktionsprodukte,insbesondere des Dihydrotestosterons, umgewandelt wird.

Diesen Vorgang muß man sich wie folgt vorstellen:
Das Testosteron diffundiert vom Plasma in das Cytosol der Zelle. (Dieser Vorgang ist noch nicht endgültig bewiesen. Möglicherweise finden noch andere Transportmechanismen an der Zellmembran statt)

Die im endoplasmatischen Retikulum oder der Kernmembran lokalisierte ⁴delta-3-Ketosteroid 5 alpha-Oxidoreduktase (5 alpha-Reduktase) konvertiert das freie Testosteron zu Dihydrotestosteron.

(Die 5 alpha-Reduktase konnte von Moore 1972 durch Isolierung aus der Kernmembran der Rattenprostata nachgewiesen werden.)

Das entstandene freie 5 alpha-Dihydrotestosteron wird nun in selektiver Weise durch einen hochspezifischen makromolekularen Proteinkomplex gebunden, der anschließend in den Kern eintritt.

Im Kern lagert er sich am Ort der DNA-Synthese einem Akzeptorprotein an und beeinflußt hier wahrscheinlich die Proteinbiosynthese.

So konnten auch Dahnke, Scheuer und Mosebach (1973) bei in vivo-Untersuchungen an Prostatae und Vesikulardrüsen 40 Tage alter Ratten eine signifikante Steigerung der Uridininkorporation in die RNA nach einmaliger Injektion von 200 micro Gramm Testosteronpropionat pro 100 g Körpergewicht feststellen.

II Arbeitshypothese

Mit der folgenden in-vitro-Studie im menschlichen Prostataadenomgewebe soll versucht werden, Aufschluß über das Verhalten des Testosterons und seiner Metabolitenbildung zu geben, ob

1. eine quantitative Korrelation zwischen den alpha-Metaboliten des Testosterons, dem Testosteron selber und der steigenden Substratkonzentration besteht
2. eine ebenfalls quantitative Korrelation zwischen den beta-Metaboliten des Testosterons, dem Testosteron selber und der steigenden Substratkonzentration besteht
3. bei steigender Substratmenge eine Substrathemmungs-Reaktion mit konsekutiver Minderung der Testosteron-Metabolitenbildung eintritt.

III Material und Methode

1. Gewebe

Für die in-vitro Experimente wurden fünf auf trans-vesikalem Wege enukleierte Prostataadenome verwendet.

Sofort nach der Operation wurde das Gewebe in eiskalte Krebs-Ringer-Phosphat-Puffer-Lösung gelegt und innerhalb kürzester Zeit vom Operationssaal ins Labor gebracht.

Der Zeitraum zwischen Entnahme und Weiterverarbeitung wurde sehr kurz gehalten, um mögliche regressiv autolytische Veränderungen des Gewebes zu verhindern.

In allen Fällen lag die histologische Diagnose einer Cystadenomyofibromatose vor.

2. Reagenzien

7 alpha - H^3 (n) - Testosteron, (Radiochemical Center
Amersham, England)

in Benzol gelöst, mit einem analytischen Reinheitsgrad von 99 % und einer spezifischen Aktivität von 7,6 Ci/mmol, was durch eine Papierchromatographie in

Benzol : Petrol (80 - 100°C) : Methanol : H_2O
(250 : 250 : 350 : 150; v/v/v/v)

bewiesen wurde.

Das Testosteron wurde nach dem Eindampfen des Benzols in den gewünschten Konzentrationen in Äthanol gelöst.

4 - C¹⁴- Testosteron, (Radiochemical Center Amersham, England)
gelöst in Benzol : Äthanol (9 : 1;v/v) mit einer
spezifischen Aktivität von 59 mCi/mmol und einem
Reinheitsgrad von mehr als 99%, was mittels
Papierchromatographie in

Benzol : Petrol (80 - 100°C) : Methanol : H₂O
(25 : 25 : 35 : 15;v/v/v/v)

bewiesen wurde.

Folgende unmarkierte Steroide dienten als Referenzen
und Trägersteroid (1 mg / ml Chloroform):

- | | |
|------------------------------------|---|
| 1. Testosteron | = Androst-4 en -17 β ol - 3 on |
| 2. 5 α - Androstandiol | = 5 α -Androstan-3 α , -17 β - diol |
| 3. 5 β - Androstandiol | = 5 β -Androstan-3 α , -17 β - diol |
| 4. 5 α - Dihydrotestosteron | = 5 α -Androstan-17 β ol-3 on |
| 5. 5 β -Dihydrotestosteron | = 5 β -Androstan-17 β ol-3 on |
| 6. Androstendion | = Androst -4 en -3,17-dion |
| 7. 5 α - Androstandion | = 5 α - Androstan-3,17-dion |
| 8. 5 β - Androstandion | = 5 β - Androstan-3,17-dion |

1. - 7. : Fa. Merck, Darmstadt

8. : Fa. Ikapharm, Ramat Gan, Israel

Alle anderen verwandten Chemikalien hatten einen
analytischen Reinheitsgrad.

3. Versuchsanordnung

Von jedem der fünf Prostataadenome wurde eine Versuchsreihe mit 9 Gewebeproben hergestellt.

Das Standardinkubat bestand aus Adenomgewebewürfeln von 300 mg Gewicht, die vorher instrumentell aufgearbeitet wurden sowie aus 2 ml Krebs-Ringer-Phosphat-Puffer-Lösung mit einem pH von 7,4.

Jedem dieser 9 Einzelinkubate innerhalb einer Versuchsreihe wurden nun 9 verschiedene Konzentrationen an $7 \alpha\text{-H}^3\text{-Testosteron}$ in steigender Konzentration zugesetzt.

Man hat so mit folgenden Konzentrationen inkubiert:

1,118 : 2,302 : 3,289 : 6,578 : 13,157 : 19,736 :

39,473 : 52,631 : 65,789 mol $\times 10^{-8}/\text{l}$.

Die Inkubation wurde für 2 Stunden bei 37°C in einer $\text{O}_2:\text{CO}_2$ Atmosphäre von 95 : 5 Vol % durchgeführt.

(Brutschrank der Fa. Heraeus, Hanau, Mod. KB 600 K/CO_2)

Der Zusatz eines NADH und NADPH regenerierenden Systems ist bei Verwendung eines ungebrochenen Zellsystems nicht notwendig.

4. Zertrümmerung und Extraktion der Steroide

Nach Beendigung der Inkubation erfolgte die Trennung von Medium und Gewebe durch Abpipettieren und Nachwaschen unter konstanter Eiskühlung mit insgesamt 5 ml physiologischer NaCl-Lösung (4 °C).

Die Reaktion in Medium und Gewebe wurde schließlich mit Chloroform-Methanol im Verhältnis 2 : 1 (v/v) gestoppt.

Für die nachfolgende Zertrümmerung des Gewebes (3 min.) fand der Ultra-Turrax (Ika-Werke, Typ 18-10) Verwendung.

Der entstandene Gewebebrei wurde in bereitstehende Schüttelbirnen umgefüllt und der Ultra-Turrax-Stab mit 2 x 5 ml physiologischer NaCl-Lösung gespült.

In jede Medium- und Gewebeschüttelbirne wurde jetzt mit einer Eppendorf-Mikro-Pipette 10 μ l des 4-C¹⁴-Testosteron gegeben. Beide Birnentypen wurden anschließend filtriert und mit Chloroform-Methanol (2:1;v/v) aufgefüllt.

Zur Extraktion wurden die Schüttelbirnen (Medium und Gewebe) für 15 Min. auf eine Schüttelmaschine gebracht. (Fa. Bühler, Typ SM 6 E)

Die Trennung der wässrigen Phase von der steroidhaltigen Phase erfolgte nach Zentrifugation über 5 min. bei 2000 UPM durch Verwerfen der wässrigen Phase mit einer Wasserstrahlpumpe.

Die in Chloroform-Methanol gelösten Steroide wurden in den Schüttelbirnen unter schwacher Pressluft in einem Wasserbad eingedampft.

5. Darstellung der Steroidhormone

a) Dünnschichtchromatographie

Die in der Schüttelbirne befindlichen Steroide wurden in 0,2 ml Chloroform gelöst und nach ausführlicher Wandspülung der Schüttelbirne mit einer Eppendorf-Mikro-Pipette auf Silica-Gel F 254 - Platten (20 x 20 cm Seitenlänge) der Fa. Merck übertragen.

Die Kieselgel-Platten wurden anschließend in zwei gesättigten Kammern mit folgenden Laufmitteln entwickelt:

<u>Laufbad 1</u>	<u>Laufbad 2</u>
Chloroform - Methanol (97,5 : 2,5;v/v)	Dichlormethan-Essigsäureäthyläther (80 : 20; v/v)

Diese Lösungsmittel eigneten sich am besten zur Auftrennung der zu erwartenden Steroide. Sie wurden für jede Platte frisch angesetzt.

b) Identifizierung der Steroide

1. Durch UV-Licht mit einer Wellenlänge von 254 nm. Hierdurch lassen sich Steroide mit einer Doppelbindung lokalisieren: Δ^4 -Steroide = Testosteron und Androstendion.
2. Durch Radiochromatographie mit dem Dünnschichtscanner II (Typ LB 2723, Fa. Berthold)

Man erhält hierbei die Aussage, daß Substanzen, die in entsprechenden Konzentrationen vorhanden sind, mit den nachzuweisenden Steroiden identisch sind, die vorher durch UV-Licht nachgewiesen wurden.

3. Durch eine spezifisch farbliche Darstellung mittels einer Sprühreagenz der folgenden Zusammensetzung:

2,5 ml Anisaldehyd

5,0 ml H_2SO_4

Essigsäure ad 250 ml

6. Messung der Radioaktivität

Die identifizierten radioaktiven Bezirke wurden, den Testosteronmetaboliten entsprechend, ausgeschnitten und in Zählröhrchen der Fa. Packard, Frankfurt, gegeben und mit 20 ml Szintillationsflüssigkeit aufgefüllt, die folgende Zusammensetzung hatte:

2000 ml Toluol

8 g 2,5-Diphenyloxazol (PPO)

200 ml Methanol

Die anschließende Messung erfolgte durch einen Tri-Carb-Liquid-Scintillationsspektrometer (Typ 3310, Fa. Packard, Frankfurt). Der innere Standard betrug 226 Ra.

Der Meßfehler war durch wiederholte Messungen kleiner als 3 %. Quench-Korrekturen waren nicht erforderlich. Ca. 60-70 % der Initialaktivität konnte wiedergefunden werden.

7. Statistische Auswertung

Für jeden der ermittelten Metaboliten wurden Mittelwerte, Standardabweichungen und Stichprobenfehler errechnet.

Grundlage hierfür war die wiederaufgefundene Radioaktivität in Prozent der initial zugesetzten Substratmenge an H^3 -Testosteron.

Die Mittelwerte wurden nach der Gleichung

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i$$

errechnet.

n = Anzahl der Meßwerte pro Fraktion (Metabolit)

x_i = der i - te Meßwert der Fraktion

Die Gleichung zur Berechnung der Standardabweichung lautet:

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n x_i^2 - \frac{1}{n} \left(\sum_{i=1}^n x_i \right)^2}{n - 1}}$$

Die Standardabweichung des Mittelwertes (=Stichprobenfehler) ergab sich aus folgender Gleichung:

$$s_{\bar{x}} = \frac{S}{\sqrt{n}}$$

Die Beurteilung der funktionellen Abhängigkeit zwischen zwei Größen soll hier mittels Erstellung einer linearen Regression erfolgen.

So erhält man in diesem Fall eine Aussage über das Metabolitenverhalten gegenüber einer veränderlichen Substratkonzentration.

Regressionsgleichung: $y = bx + a$

a = Streckenabschnitt auf der y -Achse

b = Tangens des Steigungswinkels der Geraden

IV Ergebnisse

Darstellung der Prozentwerte der wiederaufgefundenen Radioaktivität entsprechend den Metaboliten-Konzentrationen und der jeweils zugegebenen Substrat-Konzentration an H^3 -Testosteron (Tab. 1 - 9).

Fraktion I	=	5 beta - Androstandiol
Fraktion II	=	5 alpha - Androstandiol
Fraktion III	=	H^3 - Testosteron
Fraktion IV	=	5 beta - Dihydrotestosteron
Fraktion V	=	5 alpha- Dihydrotestosteron
Fraktion VI	=	Androstendion
Fraktion VII	=	5 beta - Androstandion
Fraktion VIII	=	5 alpha- Androstandion

Tab.1 (Substrat-Konz. $1,118 \times 10^{-8}$ mol/l)

Frakt.	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
PA 1	0,80	10,5	30,0	1,6	41,6	2,5	0,4	3,0
2	1,5	18,3	18,6	6,7	32,7	3,1	3,2	5,7
3	0,5	8,6	17,4	7,4	46,7	1,4	2,2	4,0
4	1,0	8,7	4,0	7,1	59,3	0,9	3,7	10,5
5	2,1	18,0	18,5	4,5	42,8	3,7	3,0	5,0
$\bar{x}$	1,2	12,8	17,6	5,5	44,6	2,3	2,5	5,6
s	0,6	4,9	9,2	2,4	9,6	1,1	1,2	2,9
$s_{\bar{x}}$	0,3	2,2	4,1	1,0	4,3	0,5	0,5	1,3

Tab. 2 (Substrat-Konz. $2,302 \times 10^{-8}$ mol/l)

Frakt.	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
PA 1	1,4	12,4	27,1	3,3	35,3	2,4	1,1	4,2
2	1,4	12,4	17,8	3,2	44,9	3,0	2,8	6,0
3	2,6	5,2	28,1	4,9	39,5	1,6	2,7	5,0
4	1,1	7,4	6,4	4,9	62,0	1,0	3,3	9,4
5	1,9	19,1	10,9	5,4	39,9	1,7	2,4	5,1
$\bar{x}$	1,7	11,3	18,1	4,3	44,3	1,9	2,5	5,9
s	0,6	5,3	9,6	1,0	10,4	0,8	0,8	2,0
$s_{\bar{x}}$	0,3	2,4	4,3	0,5	4,7	0,3	0,4	0,9

Tab. 3 (Substrat-Konz. $3,289 \times 10^{-8}$ mol/l)

Frakt.	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
PA 1	1,2	12,1	31,3	1,3	37,9	1,8	0,8	3,4
2	2,6	7,4	37,8	3,7	17,8	7,8	2,8	5,6
3	0,5	6,7	13,5	6,6	44,5	1,3	2,1	6,9
4	1,3	6,4	16,8	2,8	53,7	2,0	1,9	8,1
5	1,7	19,6	14,8	4,9	34,2	2,0	1,7	5,6
$\bar{x}$	1,5	10,4	22,8	3,8	37,6	2,9	1,8	5,9
s	0,7	5,6	10,9	2,0	13,3	2,7	0,7	1,7
$s_{\bar{x}}$	0,3	2,5	4,9	0,9	5,9	1,2	0,3	0,8

Tab.4 (Substrat-Konz. $6,578 \times 10^{-8}$ mol/l)

Frakt.	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
PA 1	1,4	20,6	36,1	0,9	26,4	1,9	0,4	1,8
2	1,7	12,6	38,9	4,4	23,7	4,4	1,3	3,6
3	0,8	7,6	20,2	3,9	53,3	1,7	2,2	3,1
4	0,8	11,0	7,4	3,1	57,5	0,7	2,4	9,4
5	1,2	20,5	15,6	2,9	41,5	1,2	1,6	5,1
$\bar{x}$	1,2	14,4	23,6	3,0	40,4	1,98	1,58	4,6
s	0,38	5,8	13,5	1,3	15,28	1,43	0,79	2,9
$s_{\bar{x}}$	0,17	2,6	6,03	0,5	6,8	0,6	0,35	1,31

Tab.5 (Substrat-Konz. $13,157 \times 10^{-8}$ mol/l)

Frakt.	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
PA 1	1,8	19,3	45,7	0,7	14,9	3,0	0,3	1,6
2	1,5	10,9	32,9	3,8	33,5	3,7	2,3	3,9
3	4,4	6,7	49,4	5,0	60,4	3,3	5,2	7,6
4	0,8	9,1	8,4	3,7	57,7	1,1	2,8	10,6
5	1,0	8,4	41,7	2,5	29,7	1,5	1,4	4,3
$\bar{x}$	1,9	10,8	35,6	3,14	39,24	2,52	2,4	5,6
s	1,45	4,9	16,4	1,62	19,39	1,14	1,83	3,5
$s_{\bar{x}}$	0,64	2,2	7,3	0,7	8,67	0,51	0,81	1,57

Tab. 6 (Substrat-Konz. $19,736 \times 10^{-8}$ mol/l)

Frakt.	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
PA 1	1,7	11,9	28,7	2,4	36,3	1,8	0,7	3,8
2	1,2	9,1	32,2	13,6	24,8	4,9	1,7	4,4
3	2,1	3,4	23,1	4,4	29,3	2,1	1,5	15,4
4	0,6	8,4	17,6	2,4	56,8	1,2	1,3	7,0
5	0,6	9,1	58,4	2,4	20,7	1,3	0,7	1,9
$\bar{x}$	1,24	8,38	32,0	5,04	33,5	2,2	1,18	6,52
s	0,66	3,09	15,76	4,86	14,2	1,5	0,46	5,34
$s_{\bar{x}}$	0,29	1,38	7,05	2,17	6,3	0,68	0,2	2,38

Tab.7 (Substrat-Konz. $39,473 \times 10^{-8}$ mol/l)

Frakt.	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
PA 1	1,8	14,8	46,9	1,4	17,6	3,8	0,45	2,9
2	2,1	11,0	37,7	4,2	25,4	4,6	0,8	5,2
3	0,8	5,6	32,9	2,6	42,4	2,5	1,0	6,2
4	0,5	8,8	18,6	2,4	54,2	1,1	2,3	11,3
5	0,8	13,6	29,3	3,3	35,6	2,4	1,6	5,6
$\bar{x}$	1,2	10,76	33,08	2,7	35,04	2,8	1,23	6,24
s	0,7	3,7	10,44	1,0	14,3	1,3	0,72	3,09
$s_{\bar{x}}$	0,31	1,65	4,67	0,46	6,3	0,6	0,32	1,38

Tab.8 (Substrat-Konz. $52,631 \times 10^{-8}$ mol/l)

Frakt.	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
PA 1	1,5	4,7	62,7	1,2	12,0	6,0	0,4	3,4
2	2,7	9,0	34,0	3,9	24,0	10,0	1,7	4,6
3	0,4	65,9	3,7	1,4	20,5	1,1	1,4	3,3
4	0,6	6,8	32,0	2,7	43,6	2,7	2,4	5,3
5	0,8	15,7	29,5	4,4	30,0	3,2	1,3	5,8
$\bar{x}$	1,14	20,42	32,3	2,72	26,02	4,6	1,44	4,48
s	0,92	25,75	20,93	1,43	11,78	3,49	0,72	1,11
$s_{\bar{x}}$	0,41	11,52	9,36	0,64	5,2	1,56	0,32	0,49

Tab.9 (Substrat-Konz. $65,789 \times 10^{-8}$ mol/l)

Frakt.	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
PA 1	0,8	3,8	32,3	0,6	17,0	4,0	2,6	1,5
2	1,4	4,5	59,0	2,5	15,7	5,8	1,0	2,7
3	3,2	7,1	7,8	3,3	47,8	8,0	2,4	1,4
4	0,5	4,1	51,0	2,3	30,3	3,3	1,1	4,0
5	0,8	15,0	29,6	4,5	32,5	2,7	1,4	5,6
$\bar{x}$	1,34	6,9	35,18	2,64	28,6	4,7	1,7	3,04
s	1,08	4,7	20,0	1,43	13,11	2,1	0,74	1,77
$s_{\bar{x}}$	0,48	2,1	8,9	0,63	5,8	0,9	0,33	0,79

Tab.10

Zusammenfassende Darstellung der Mittelwerte und Standardabweichungen mit ihrer Zugehörigkeit zu den einzelnen Fraktionen und den steigenden Substratkonzentrationen. Dabei seien den einzelnen Substratmengen wie folgt die Zahlen 1 bis 9 zugeordnet:

$$1 = 1,118 \times 10^{-8} \text{ mol/l}$$

$$6 = 19,736 \times 10^{-8} \text{ mol/l}$$

$$2 = 2,302 \times 10^{-8} \text{ "}$$

$$7 = 39,473 \times 10^{-8} \text{ "}$$

$$3 = 3,289 \times 10^{-8} \text{ "}$$

$$8 = 52,631 \times 10^{-8} \text{ "}$$

$$4 = 6,578 \times 10^{-8} \text{ "}$$

$$9 = 65,789 \times 10^{-8} \text{ "}$$

$$5 = 13,157 \times 10^{-8} \text{ "}$$

$\bar{x}$ = Mittelwert, s= Standardabweichung

Frakt.	Substrat-Mengen:								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
I	$\bar{x}$ 1,2	1,7	1,5	1,2	1,9	1,24	1,2	1,14	1,34
	s 0,6	0,6	0,7	0,38	1,45	0,66	0,7	0,92	1,08
II	$\bar{x}$ 12,8	11,3	10,4	14,4	10,8	8,38	10,76	20,42	6,9
	s 4,9	5,3	5,6	5,8	4,9	3,09	3,7	25,75	4,7
III	$\bar{x}$ 17,6	18,1	22,8	23,6	35,6	32,0	33,08	32,3	35,18
	s 9,2	9,6	10,9	13,5	16,4	15,76	10,44	20,93	20,0
IV	$\bar{x}$ 5,5	4,3	3,8	3,0	3,14	5,04	2,7	2,72	2,64
	s 2,4	1,0	2,0	1,3	1,62	4,86	1,0	1,43	1,43
V	$\bar{x}$ 44,6	44,3	37,6	40,4	39,24	33,5	35,04	26,02	28,6
	s 9,6	10,4	13,3	15,28	19,39	14,2	14,3	11,78	13,11
VI	$\bar{x}$ 2,3	1,9	2,9	1,98	2,52	2,2	2,8	4,6	4,7
	s 1,1	0,8	2,7	1,43	1,14	1,5	1,3	3,49	2,1
VII	$\bar{x}$ 2,5	2,5	1,8	1,58	2,4	1,18	1,23	1,44	1,7
	s 1,2	0,8	0,7	0,79	1,83	0,46	0,72	0,72	0,74
VIII	$\bar{x}$ 5,6	5,9	5,9	4,6	5,6	6,52	6,24	4,48	3,04
	s 2,9	2,0	1,7	2,9	3,5	5,34	3,09	1,11	1,77

Aus dieser Tabelle wird im folgenden für jede Fraktion die entsprechende Regressionsgerade dargestellt, um die Abhängigkeit des prozentualen Anteils der wiederaufgefundenen Radioaktivität von der ursprünglich zugesetzten Menge an H^3 -Testosteron zu charakterisieren.

Abb. 1

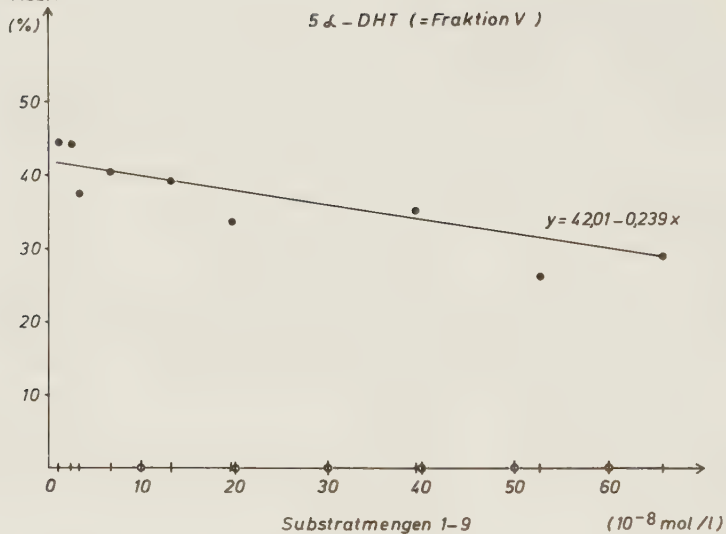


Abb. 2

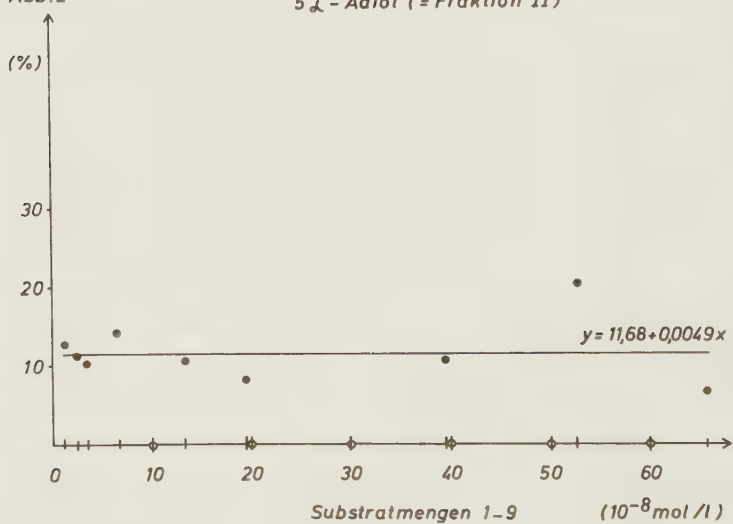


Abb. 3

H^3 - Testosteron (= Fraktion III)

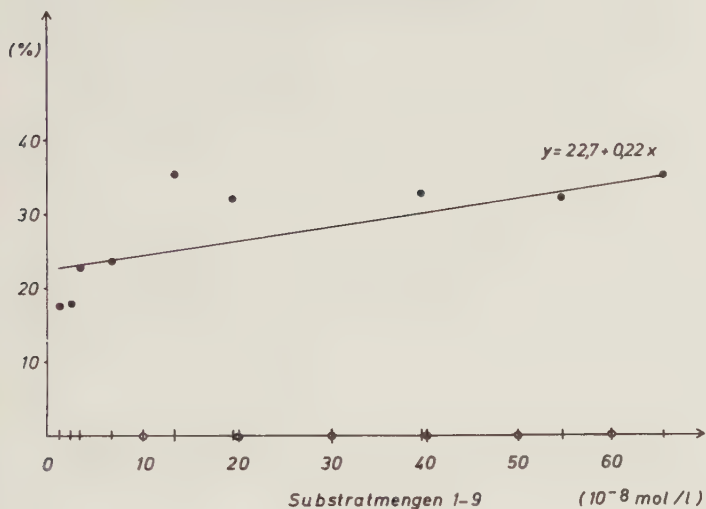


Abb. 4

Androstendion (=Fraktion VI)

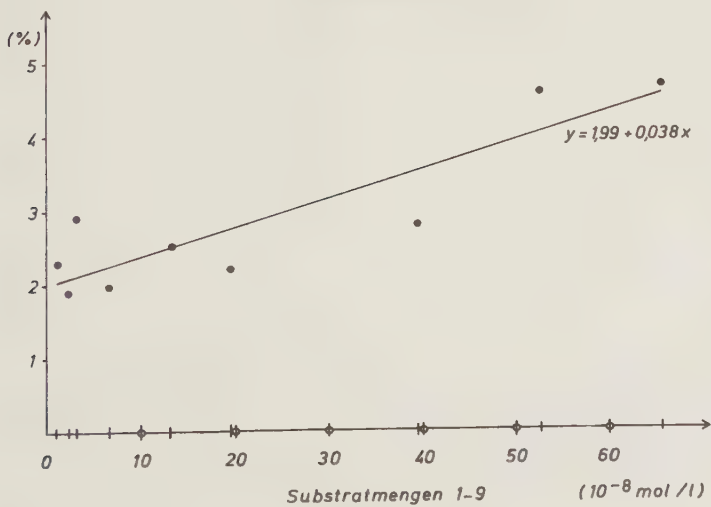


Abb. 5

5 Δ - Androstandion (=Fraktion VIII)

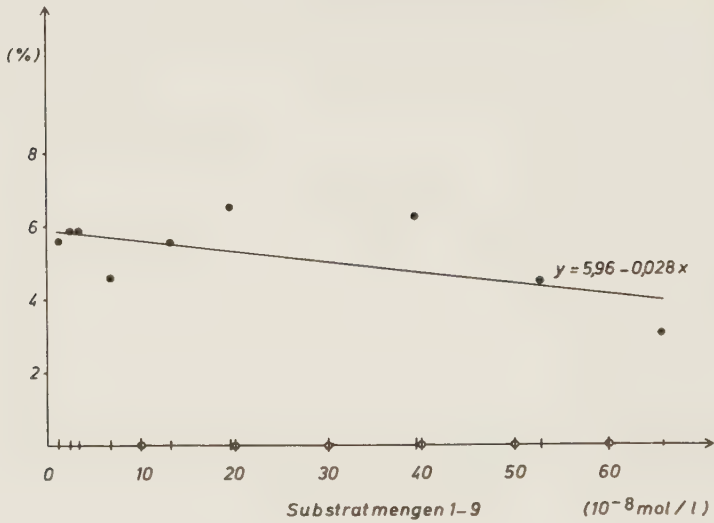


Abb. 6

5 β - Androstandion (=Fraktion VII)

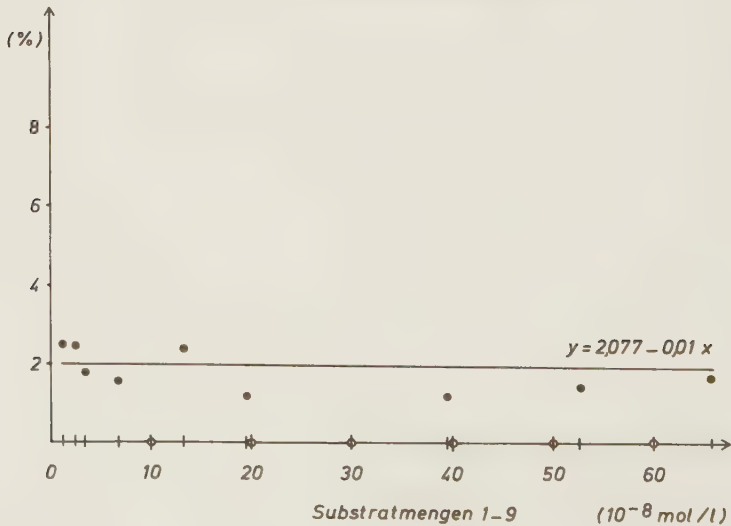


Abb.7

5 β - Adiol (Fraktion I)

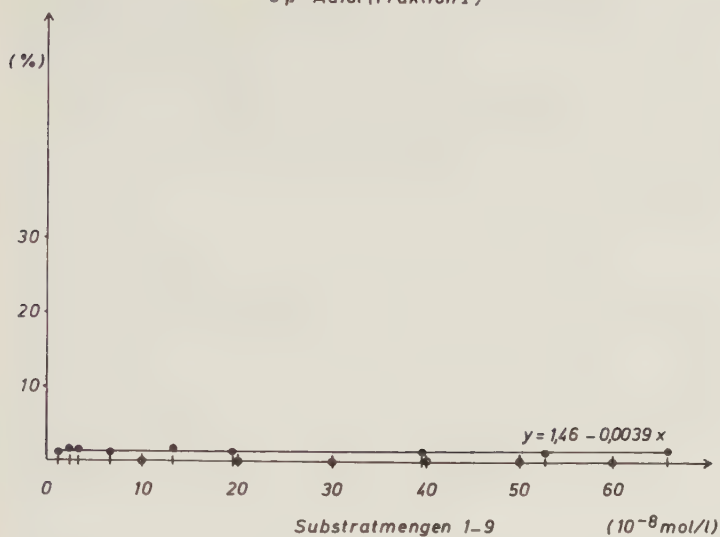
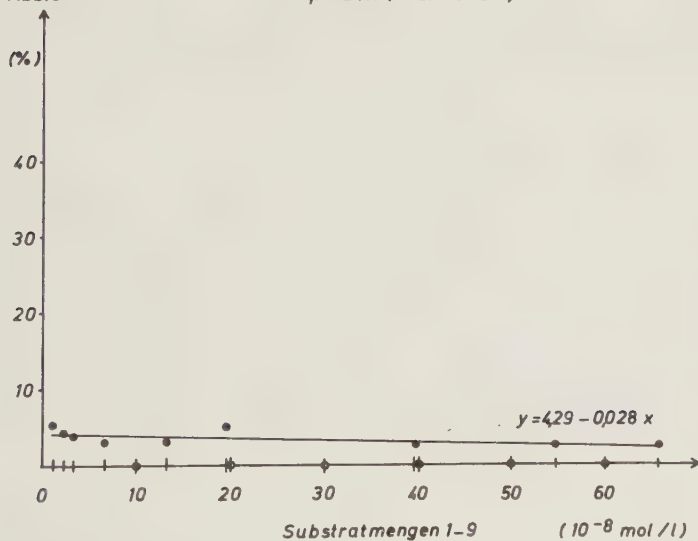


Abb.8

β - DHT (Fraktion IV)



Erläuterung der Abbildungen

Um eine Aussage über die Bildung und das Verteilungsmuster der entstandenen Testosteronmetaboliten zu gewinnen, wurden die Mittelwerte und Standardabweichungen berechnet sowie lineare Regressionen aller fünf verarbeiteten Adenome durchgeführt.

Da man einen qualitativ gleichartigen Umsatz bei verschiedenen Prostatae voraussetzen darf, soll hier nur der quantitative Umsatz von Interesse sein.

Die 5 alpha-Metaboliten des Testosterons, 5 alpha-Dihydrotestosteron und Adiol, machten zusammen mit dem unmetabolisierten Testosteron den Hauptanteil der wiederaufgefundenen Radioaktivität aus.

Dieses Ergebnis steht in Übereinstimmung mit in der Literatur auffindbaren Angaben, wonach der 5 alpha-Reduktionsweg über die 5 alpha-Reduktase als die bevorzugte Reaktion im Prostatagewebe anzusehen ist.

5 alpha-Dihydrotestosteron (Abb.1) zeigt die höchste Auffindungsrate von 44,6 % der eingesetzten Radioaktivität am Anfang der Inkubationsreihe. Mit zunehmender Substratkonzentration fällt dann der prozentuale Anteil des gebildeten DHT bei der höchst eingesetzten H^3 -Testosteron-Menge auf 28,6 % ab. Die absolut gebildete Menge an DHT nimmt dabei entsprechend zu.

Demgegenüber bleibt der Prozentsatz des gebildeten 5 alpha-Adiols (Abb.2), das über DHT als Zwischenprodukt gebildet wird, über alle zugesetzten Substratkonzentrationen mit Werten von im Mittel 11,5 % der aufgefundenen Radioaktivität konstant.

Bei dem zu Menge 8 gehörigen Mittelwert dürfte es sich um einen Ausreißerwert handeln, wie man aus der hohen Standardabweichung (vgl. Tab.10) folgern kann.

Androstendion (Abb.4) zeigt eine im Verlaufe der Konzentrationsreihe gesteigerte prozentuale Bildung. Hierzu muß aber die Gleichgewichtsreaktion mit Testosteron beachtet werden, die noch gesondert erwähnt werden soll. Die wiederaufgefundene Radioaktivität lag zwischen 2% und 5 % der eingesetzten H^3 -Testosteron-Konzentration.

Der steigende prozentuale Anteil des unmetabolisierten Testosterons (Abb.3) muß getrennt von übrigen Beobachtungen gewertet werden, da man diesem Verlauf keine eigene Enzymkinetik zugrunde legen kann. Die meßbare Menge des unmetabolisierten Testosterons ist eine Funktion des gesamten Umsatzes in Metaboliten sowie der zugegebenen Substratkonzentration. Es wurden Werte zwischen 17% und 36% ermittelt.

Die übrigen β -Reduktionsprodukte β -DHT, β -Adiol und β -Androstendion sind mit einer Auffindungsrate von unter 5 % ohne nennenswerte Bedeutung. Dieser Befund korreliert mit übereinstimmenden Aussagen von Farnsworth et al. (1963) und Siiteri et al. (1971), wonach die Bildung der 5 α -Reduktionsprodukte, so wie es auch in dieser Untersuchung gefunden wurde, bei weitem überwiegt und als ätiopathogenetische Grundlage des Prostataadenoms angesehen werden muß.

Der physiologische Bereich des Testosterons und seiner Metaboliten entsprechend den Substratkonzentrationen 4 - 6 (s. Tab. 10) zeigt keine signifikante Anhebung oder Senkung des Substratumsatzes, die eine besondere Interpretation zuließe.

Die aufgefundenen polaren und unpolaren Fraktionen sind für den Stoffwechsel des Testosterons völlig unwesentlich und sollen deshalb auch hier nicht erwähnt werden.

V Diskussion

Bei den vorliegenden Untersuchungen wird deutlich, daß nach Inkubation von Prostataadenomgewebe mit Testosteron die gleiche qualitative Metabolitenverteilung wie bei in-vivo-Versuchen gefunden wird.

Dieses Verhalten wird über die ganze Versuchsreihe bei allen fünf Prostataadenomen beobachtet, wenngleich auch oft stärkere quantitative Abweichungen feststellbar waren, was die zum Teil hohen Standardabweichungen erklärt.

Dieser quantitative Unterschied ist einerseits durch ein unterschiedliches Enzymleistungsvermögen der verschiedenen Prostatae erklärbar, andererseits vielleicht durch einen gewissen aktiveren oder inaktiveren Zellzustand.

Hierfür gibt es aber keine eindeutigen Beweise.

Da man im in-vitro-Versuch zwar eine höchstmögliche Annäherung an in-vivo-Verhältnisse bekommt, so sind letztlich durch unterschiedliche Gewebszusammensetzungen und den daraus resultierenden unterschiedlichen Steroidgradienten doch keine maximalen in-vivo-Bedingungen erreichbar.

Hierzu sei beispielsweise die freie Diffusion des Testosterons in die Zelle angesprochen - sowie ein vielleicht diesen Prozeß überlagernder aktiver Transport an der Zellmembran für Testosteron. Die gesamte körperliche Energiebilanz könnte hierauf z.B. auch einen Einfluß haben, so daß die Energiebilanz der einzelnen Zelle verändert wird.

Bei den vorliegenden in-vitro-Inkubationen wurden aber unbrochene Zellsysteme verwendet, so daß der Zusatz eines Cofaktors (NADPH_2) für die ablaufenden Reaktionen bei einer Inkubationszeit bis zu 2 Stunden nicht notwendig war, da das zelleigene Coenzym erhalten bleibt.

(Gloyne et al, 1970; Farnsworth, 1971)

Die für die Prostataadenomentstehung als ätiologisch angesehene DHT-Akkumulation an sogenannten "Speicher-rezeptoren" rückt jedoch diese Betrachtungsweise wieder in den Mittelpunkt und beweist die zentrale Stellung dieses 5 alpha-Metaboliten.

In dieser Arbeit wurde von der ersten eingesetzten Substratkonzentration an ein stetiger Abfall der prozentual gebildeten DHT-Menge über alle zugegebenen Substratkonzentrationen beobachtet (Abb.1).

Dies bedeutet, daß die Bildungsreaktion sich schon von Anfang an in einem zunehmenden Sättigungsbereich befindet, wenn man für diese Reaktion eine Michaelis-Menton-Kinetik zugrunde legt. Die absolut gebildete Menge an 5 alpha-Dihydrotestosteron nimmt dabei zunächst zu, nähert sich dann aber auch dem Sättigungsbereich.

Um nun zu prüfen, ob der Abbau von Testosteron in der Prostataadenomzelle enzymatisch bewirkt wird, wurde von Frederiksen u. Wilson (1971) die Reaktionsgeschwindigkeit bei gleichbleibender Enzymkonzentration in Abhängigkeit von verschiedenen Substratkonzentrationen gemessen. Die dabei entstandene Hyperbel näherte sich asymptotisch einer maximalen Reaktionsgeschwindigkeit.

Im Falle des DHT in der vorliegenden Studie ist besonders bemerkenswert, daß schon mit einer unphysiologisch kleinen Substratkonzentration eine Enzymsättigung erreicht wurde.

Beim 5 alpha-Adiol (Abb.2) bewegt man sich offensichtlich dagegen auf dem steilen Teil einer Michaelis-Kinetik, da die Regressionsgerade hier einen konstanten prozentualen Umsatz der zugegebenen Substratmenge wiedergibt. Hier war auch keine charakteristische Änderung des Umsatzes innerhalb der verwendeten Substratkonzentrationen feststellbar.

Für 5 alpha-Androstandion (Abb.5) ergab sich eine leichte Abnahme der prozentual gebildeten Menge, die aber innerhalb von 2 % der Ausgangsaktivität lag und wegen der geringen Wiederauffindungsrate keine Bedeutung zu haben scheint.

So ist auch die Beurteilung der prozentualen Bildung von Androstendion nicht von großer Bedeutung, da Androstendion in reversiblen Gleichgewicht mit Testosteron steht, wobei die Reaktion aber stark zugunsten des Testosterons verläuft. Die geringe wiederaufgefundene Radioaktivität der eingesetzten Konzentrationen spielt auch hier im Gesamtmetabolismus des Testosterons nur eine geringe Rolle.

Es ist nun zu bedenken, daß das Testosteron und seine Metaboliten im Gewebe und im Medium gemessen wurden. Durch ihre Neubildung und Ausströmung ins Gewebe und ins Medium erhält man eine konstante Änderung der Konzentration und des Gradienten.

Die β -Reduktionsprodukte haben für die Ätiologie des Prostataadenoms, wie schon erwähnt, keine besondere Bedeutung. Der wiederaufgefundene prozentuale Anteil lag bei diesen Fraktionen um 2 % bis 4 % und hat damit auch keinen Einfluß auf die Metabolisation von Testosteron.

Im Testosteronverhalten (Abb.3) spiegelt sich jedoch wieder deutlich der prozentual stärker gebildete Anteil der 5 alpha-Metaboliten wieder.

Man kann sich den Kurvenverlauf damit erklären, daß der prozentual gebildete Anteil der Reduktionsprodukte (als bevorzugte und quantitativ wichtigste Reaktion) abnimmt und dadurch die Menge an unmetabolisiertem Testosteron ansteigt.

Eine absolute Auftragung der Werte in ihrer molaren Konzentration würde dieses Verhalten noch deutlicher machen

So bestätigen diese Ergebnisse in Übereinstimmung mit anderen Befunden, daß in der menschlichen Prostata in der Hauptsache der 17-Hydroxy-Abbaupfad des Testosterons beschriftet wird und der 17-Keto-Weg nur eine geringe Bedeutung hat.

Die vorliegenden Untersuchungen könnten vielleicht mit weiteren Arbeiten unter dem besonderen Aspekt der Substratkonzentration bzw. deren Ausdehnung dazu führen, eine Teillösung zur Kausaltherapie des Prostataadenoms zu liefern.

VI Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde das Umsatzverhalten des Testosterons und seiner Metaboliten unter steigenden Substratkonzentrationen gemessen und beurteilt.

Aus fünf operativ entnommenen, menschlichen Prostataadenomen wurde je eine Inkubationsreihe mit Gewebestücken von 300 mg erstellt.

Diesen Gewebestücken wurde dann in steigender Konzentration von $1,118 \times 10^{-8}$ mol/l bis $65,789 \times 10^{-8}$ mol/l neun Substratmengen an radioaktiv markiertem H^3 -Testosteron zugesetzt.

Die Inkubation verlief über genau 2 Stunden bei $37^\circ C$ in einer $O_2:CO_2$ Atmosphäre von 95 : 5 Vol.%.

Die Darstellung der Steroide erfolgte mittels Dünnschichtchromatographie in Chloroform-Methanol und Dichlormethan-Essigsäureäthyläther.

Durch UV-Licht und Radiochromatographie mit einem Dünnschichtscanner konnten die Fraktionen identifiziert werden. Die anschließende Messung der Radioaktivität der entstandenen Metaboliten erfolgte mit einem Tri-Carb-Liquid-Scintillationsspektrometer.

Als die quantitativ stärksten wiedergefundenen Fraktionen konnten die 5 alpha-Reduktionsprodukte Dihydrotestosteron und Adiol ermittelt werden, wobei der höchste prozentual gebildete Anteil des Dihydrotestosterons, das für die Prostatahypertrophie als ätiologisch angesehen werden muß, interessanterweise schon mit sehr niedrigen Substratkonzentrationen erreicht wurde.

5 alpha-Adiol zeigte einen konstanten Umsatz von im Mittel 11,5 % der eingesetzten Substratmenge.

Die β -Reduktionsprodukte zeigten kein auffälliges Stoffwechselverhalten, was ein Beweis für die starke Bevorzugung des 17-Hydroxy-Abbauweges von Testosteron darstellt. Sie wurden mit einer Wiederauffindungsrate von etwa 5 % gefunden.

Im physiologischen Bereich der Testosteronkonzentrationen konnten keine Besonderheiten im Substratumsatz festgestellt werden.

Die Akkumulation des Dihydrotestosterons an besonderen "Speicherrezeptoren" der Prostataadenomzelle muß daher als kausale Frage weiter diskutiert werden.

Literaturverzeichnis

- AAKVAAG, A.,
K.B.Eik-Nes
Biosynthesis and secretion in vivo
of ovarian steroids in the canine.
In: K.W.McKerns (ed.): The Gonads.
New York 1969, S.93-118
- AAKVAAG, A.,
K.J.Tveter,
O.Unhjem
et al.
Receptors and binding of androgens
in the prostate.
J.Steroid.Biochem.
3 (1972), 375-384
- ANDREWS, G.S.
The histology of the human foetal
and prepubertal prostates.
J.Anat.85 (1951), 44-54
- ACEVEDO, H.F.,
J.W.Goldzieher
The metabolism of (4-¹⁴C)progesterone
by hypertrophic and carcinomatous
human prostate tissue.
Biochim.Biophys.Acta 111 (1965), 294-298
- ACEVEDO, H.F.,
J.W.Goldzieher
Further studies on the metabolism of
4-(4-¹⁴C)androstene-3,17-dione by
normal and pathological human
prostate tissue.
Biochim.Biophys.Acta 97 (1965), 564-570
- ACEVEDO, H.F.,
J.W.Goldzieher
The metabolism of (¹⁴C)estrone by
hypertrophic and carcinomatous human
prostate tissue.
Biochim.Biophys.Acta 97 (1965), 571-578

- ACEVEDO, H.F.,
J.W.Goldzieher
The metabolism of (4-¹⁴C)4-androstene-3,
17-dione by normal human prostate tissue.
Biochim.Biophys.Acta 82 (1964), 118-121
- BAULIEU, E.E.,
P.Robel
Testosterone metabolites: Their receptors
metabolism and action in rat ventral
prostate.
In: K.Griffiths, C.G.Pierpoint (eds.):
Some aspects of the aetiology & bio-
chemistry of prostatic cancer.
Cardiff 1970, S.74-81
- BAULIEU, E.E.,
I.Lasnitzky,
P.Robel
Metabolism of testosterone and action
of metabolites on prostate gland
grown in organ culture.
Nature 219 (1968), 1155-1156
- BAULIEU, E.E.,
I.Jung
A prostatic cytosol receptor.
Biochem.Biophys.Res.Commun.
38 (1970), 599-606
- BECKER, H.,
L.Buric,
C.Petersen
et al.
Testosterone metabolism in human
prostatic tissue and blood in
patients with BPH.
Acta Endocrinol.Suppl.152 (1971), 28
- BECKER, H.,
J.Kaufmann,
H.Klosterhalfen
et al.
In vivo uptake and metabolism of
³H-testosterone and ³H-5 alpha-
dihydrotestosterone by human benign
prostatic hypertrophy.
Acta Endocrinol.71 (1972), 589-599

III

- BRUCHOVSKY, N.,
J. D. Wilson
The conversion of testosterone to 5 alpha-androstan-17 beta-ol-3-one by rat prostate in vivo and in vitro. J. Biol. Chem. 243 (1968), 2012-2021
- BRUCHOVSKY, N.,
J. D. Wilson
The intranuclear binding of testosterone and 5 alpha-androstan-17 beta-ol-3-one by rat prostate. J. Biol. Chem. 243 (1968), 5953-5960
- BRUCHOVSKY, N.
Factors that regulate the action of testosterone, dihydrotestosterone and androstandiol in rat prostate. Clin. Res. 18 (1970), 718
- CHATFIELD, J. N., Jr.,
J. D. Wilson
Intranuclear localization of testosterone-1,2-³H in rat prostate. Clin. Res. 14 (1966), 61
- DAHNIKE, H.
et al.
In-vivo-Einflüsse von Androgenen auf den Nucleinsäure-Stoffwechsel Hoppe-Seylers 354 (1973), 1141-1145
- FANG, S.,
K. M. Anderson,
S. Liao
Receptor proteins for androgens. On the role of specific proteins in selective retention of 17 beta-hydroxy-5 alpha-androstan-3-one by rat ventral prostate in vivo and in vitro. J. Biol. Chem. 244 (1969), 6584-6595

- FANG, S.,
S. Liao
Dihydrotestosterone binding by
androphilic proteins of the rat ventral
prostate.
Fed. Proc. 28 (1969), 846
- FANG, S.,
S. Liao
Androgen receptors.
J. Biol. Chem. 246 (1971), 16-24
- FARNSWORTH, W. E.,
J. R. Brown
Metabolism of testosterone by human
prostate.
J. A. M. A. 183 (1962), 436-439
- FARNSWORTH, W. E.,
J. R. Brown
Testosterone metabolism in the
prostate.
Nat. Cancer Inst. Monogr. 12 (1963), 323-329
- FARNSWORTH, W. E.
A direct effect of estrogen on prostatic
metabolism of testosterone.
Invest. Urol. 6 (1969), 423-427
- FARNSWORTH, W. E.
Uptake of plasma androgens by human
benign hypertrophic prostate.
Invest. Urol. 8 (1971), 367-372
- FARNSWORTH, W. E.
1 α -Demethylation of testosterone by
human prostate in vitro.
Steroids 6 (1965), 519-530
- FARNSWORTH, W. E.
Metabolism of 19-nortestosterone by
human prostate.
Steroids 8 (1966), 825-844

FREDERIKSEN, D.W.,
J.D. Wilson

Partial characterization of the nuclear
reduced nicotinamide adenine
dinucleotide phosphate:
⁴delta-3-ketosteroid 5 alpha-oxido-
reductase of rat prostate.
J. Biol. Chem. 246 (1971), 2584-2593

GLOYNA, R.E.,
J.D. Wilson

A comparative study of the conversion
of testosterone to 17 beta-hydroxy-
5 alpha-androstan-3-one (DHT) by prostate
and epididymis.
J. Clin. Endocrinol. 29 (1969), 970-977

GLOYNA, R.E.,
P.K. Siiteri,
J.D. Wilson

Dihydrotestosterone in prostatic
hypertrophy. II. The formation and
content of dihydrotestosterone in the
hypertrophic canine prostate and the
effect of dihydrotestosterone on
prostatic growth in the dog.
J. Clin. Invest. 49 (1970), 1746-1753

HALBAN, J.

Schwangerschaftsreaktionen der
foetalen Organe und ihre puerperale
Involution
Z. Geburtsh. Gynaek. 53 (1904), 191-231

HALL, P.F.

Endocrinology of the testis
In: A.D. Johnson, W.R. Gomes, N.L. Vandemark
(eds.): The Testis Bd. II New York, 1970

HUNTER, J.

Observations on certain parts of
animals oeconomy.
London 1786, 1. Ausgabe

KELCH, R.P.,
U.B. Lindholm,
R.B. Jaffe

Testosterone metabolism in target tissues: 2. Human fetal and adult reproductive tissues, perineal skin and skeletal muscle.

J. Clin. Endocrinol. 32 (1971), 449-461

LASNITZKY, I.

The effect of estrone alone and combined with 20-methylcholanthrene on mouse prostate gland grown in vitro.

Cancer Res. 14 (1955), 632-639

LASNITZKY, I.

The effect of estrogen, testosterone and hydrocortisone on the rat prostate gland grown in vitro.

Excerpta Med. Intern. Congr. Ser. 111 (1966), 323

LASNITZKY, I.

Uptake and metabolism of testosterone and action of testosterone metabolites on the rat ventral prostate gland grown in organ culture.

J. Endocrinol. 51 (1971), 7-8

LOWSLEY, O.S.

The development of the human prostate gland with reference to the development of other structures at the neck of the urinary bladder.

Amer. J. Anat. 13 (1912), 299-349

- MABIN, T. A.,
M. J. McMahon,
G. H. Thomas
- The interconversion of oestrone and oestradiol by human endometrium and human benign prostatic hyperplasia in organ culture.
Biochem. J. 118 (1970), 80
- MAINWARING, W. I. P.
- A soluble androgen receptor in the cytoplasm of rat prostate.
J. Endocrinol. 45 (1969), 531-541
- MAINWARING, W. I. P.
- The binding of (1,2-³H)-testosterone within nuclei of the rat prostate.
J. Endocrinol. 44 (1969), 323-333
- MAINWARING, W. I. P.
- Androgen receptors
In: K. Griffiths, C. G. Pierrepont (eds.):
Some aspects of the aetiology & biochemistry of prostatic cancer
Cardiff 1970, S. 109-114
- MAINWARING, W. I. P.,
B. M. Peterken
- A reconstituted cell-free system for the specific transfer of steroid-receptor complexes into nuclear chromatin isolated from rat ventral prostate gland.
Biochem. J. 125 (1971), 285-295
- MOORE, R. J.,
J. D. Wilson
- Localization of the reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate:delta⁴-3-ketosteroid 5 alpha-oxidoreductase of the rat ventral prostate.
J. Biol. Chem. 247 (1972), 958-967

- OFNER, P. Effects and metabolism of hormones in normal and neoplastic prostate tissue.
Vitam. Horm. 26 (1968), 237-291
- ORESTANO, F. In Vitro-Untersuchungen über den Testosteron-Metabolismus im Prostataadenom-und Carcinomgewebe. Einfluß von Oestradiol-17 β oder Progesteron auf die Konversion von Testosteron in Dihydrotestosteron
Habil. Schrift, Mainz 1972
- PRICE, D. Comparative aspects of development and structure in the prostate.
Nat. Cancer Inst. Monogr. 12 (1962), 1-17
- ROBEL, P.,
I. Lasnitzky,
E. E. Baulieu Hormone metabolism and action: testosterone and metabolites in prostate organ culture.
Biochem. J. 53 (1971), 81-97
- SAUNDERS, F. J. Some aspects of relation of structure of steroids to their prostate-stimulating effects.
Nat. Cancer Inst. Monogr. 12 (1963), 139-158
- SIITERI, P. K.,
J. D. Wilson Dihydrotestosterone in prostatic hypertrophy
I. The formation and content of dihydrotestosterone in the hypertrophic prostate of man.
J. Clin. Invest. 49 (1970), 1737-1745

- SUNDSFJORD, J. A.,
A. Aakvaag,
N. Norman
Reduced plasma testosterone and LH
in young men during progesterone
administration.
J. Reprod. Fert. 26 (1971), 263-265
- STERN, J. M.,
A. J. Eisenfeld
Distribution and metabolism of
 ^3H -testosterone in castrated male rats;
Effect of cyproterone, progesterone
and unlabeled testosterone.
Endocrinology 88 (1971), 1117-1125
- TAMAOKI, B.,
H. Inano,
H. Nakano
In vitro synthesis and conversion of
androgens in testicular tissue.
In: K. W. McKerns (ed.): The Gonads.
New York, S. 547-613
- TVETER, K. J.,
A. Aakvaag
Uptake and metabolism in vivo of
testosterone- $1,2\text{-}^3\text{H}$ by accessory sex
organs of male rats; Influence of some
hormonal compounds.
Endocrinology 85 (1969), 683-689
- UNHJEM, O.,
K. J. Tveter,
A. Aakvaag
Preliminary characterization of an
androgen-macromolecular complex from
the rat ventral prostate.
Acta Endocrinol. 62 (1969), 153-164
- WATZKA, M.
Kurzlehrbuch der Histologie und
mikroskopischen Anatomie des Menschen
Stuttgart - New York 1969,
4. überarbeitete Auflage

- WILLIAMS-ASHMAN, H.G. New facets of the biochemistry of hormone action.
Cancer Res. 25 (1965), 1096-1120
- WILSON, J.D. The nature of the RNA response to estradiol administration by the uterus of the rat.
Proc. Nat. Acad. Sci. 50 (1963), 93-100
- WILSON, J.D.,
R.E. Gloyna The intranuclear metabolism of testosterone in the accessory organs of reproduction.
Rec. Prog. Horm. Res. 26 (1970), 309-330
- WILSON, J.D. The possible role of 5 alpha-dihydrotestosterone in testosterone action.
In: K. Griffiths, C.G. Pierrepoint, (eds.): Some aspects of the aetiology & biochemistry of prostatic cancer.
Cardiff 1970, S. 63-65
- WILSON, J.D.,
J.D. Walker The conversion of testosterone to dihydrotestosterone by skin sclices of man.
J. Clin. Invest. 48 (1969), 371-379
- WOTIZ, H.H.,
B.S. Ziskind,
H.M. Lemon
et al. Studies in steroid metabolism.
IV. Evidence for the formation of a water-soluble conjugate during in vitro incubations of human tissue with testosterone.
Biochim. Biophys. Acta 22 (1956), 266-268

WOTIZ, H.H.,
H.M. Lemon

Studies in steroid metabolism.
I. Metabolism of testosterone by human
prostatic tissue sclices.
J. Biol. Chem. 206 (1954), 525-532

L e b e n s l a u f

Als Sohn des Malermeisters Josef Lanzerath und seiner Frau Katharina, geb. Rottländer, wurde ich am 17. Juni 1951 in Bergisch-Gladbach geboren.

Von 1957 bis 1962 besuchte ich dort die Grundschule und wechselte 1962 über auf die Realschule in Leverkusen.

Ab 1963 besuchte ich dann das Städtische Carl-Duisberg-Gymnasium in Leverkusen, wo ich nach Absolvierung des mathematisch-naturwissenschaftlichen Zweiges 1970 meine Reifeprüfung ablegte.

Seit dem Sommersemester 1971 bin ich als ordentlicher Student für das Fach Medizin an der Johannes Gutenberg-Universität eingeschrieben. Die naturwissenschaftliche Vorprüfung bestand ich 1972, die ärztliche Vorprüfung 1973. Seit Oktober 1973 bin ich Doktorand der Urologischen Klinik.

Hiermit möchte ich Herrn Prof.Dr.Orestano
für die Überlassung des Themas und die
Unterstützung bei der Durchführung
dieser Arbeit recht herzlich danken.

Ebenso gilt mein besonderer Dank
Fräulein H.Kuhlmann und Fräulein A.Schwabe
für die praktische Anleitung bei der
Durchführung der Laborarbeiten.

Schließlich danke ich Fräulein Budenz
für die hilfreichen Ratschläge bei der
statistischen Auswertung dieser Arbeit.

